



B3

PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61K 39/395		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/04051 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 19. März 1992 (19.03.92)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/01737 (22) Internationales Anmeldedatum: 12. September 1991 (12.09.91) (30) Prioritätsdaten: P 40 28 955.9 12. September 1990 (12.09.90) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE/DE]; Sandhofer Straße 112-132, D-6800 Mannheim-Waldhof (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WEIDLE, Ulrich [DE/DE]; Landwehrstraße 56, D-8000 München 2 (DE). RUSSMANN, Eberhard [DE/DE]; Sindelsdorferstraße 73 A, D-8122 Penzberg (DE). HIRTH, Klaus-Peter [DE/DE]; Winkstraße 6, D-8000 München 70 (DE). DIAMANTSTEIN, Tiberiu [DE/DE]; Platanenallee 24, D-1000 Berlin 19 (DE). KALUZA, Brigitte [DE/DE]; Hochfeldanger 3, D-8173 Bad Heilbrunn (DE).		(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Möhlstraße 22, D-8000 München 80 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US. Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(54) Title: MONOCLONAL ANTIBODY ACTIVE AGAINST THE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR (54) Bezeichnung: MONOKLONALE ANTIKÖRPER GEGEN DEN INTERLEUKIN 2-REZEPTOR (57) Abstract The invention concerns an antibody composition which inhibits the bonding of interleukin-2 to its high-affinity receptor. The composition contains: (1) monoclonal antibodies active against the α -chain of the interleukin-2 receptor and (2) monoclonal antibodies active against the β -chain of the interleukin-2 receptor. The invention also concerns a drug containing the antibody composition proposed. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft eine Antikörper-Zusammensetzung, welche die Bindung von Interleukin 2 an seinen hochaffinen Rezeptor hemmt und (1) monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors und (2) monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält, sowie ein Arzneimittel, welches die erfindungsgemäße Antikörper-Zusammensetzung enthält.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU ⁺	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TC	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

+ Die Bestimmung der "SU" hat Wirkung in der Russischen Föderation. Es ist noch nicht bekannt, ob solche Bestimmungen in anderen Staaten der ehemaligen Sowjetunion Wirkung haben.

Monoklonale Antikörper gegen den Interleukin 2-Rezeptor

B e s c h r e i b u n g

Bei der Antwort des Immunsystems auf ein Antigen kommt es zur Aktivierung verschiedener Zellen des Immunsystems. Diese aktivierten Zellen synthetisieren eine Reihe von Lymphokinen, die dann wiederum die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung weiterer Zellen des Immunsystems regulieren. Eine zentrale Rolle spielen dabei die T-Lymphozyten, deren Wachstum von einem spezifischen Faktor kontrolliert wird, dem Interleukin 2 (IL-2). IL-2 ist ein Lymphokin von 133 Aminosäuren und entfaltet seine wachstumsfördernde Eigenschaft über die Bindung an spezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche.

Der Interleukin 2-Rezeptor (IL-2R) existiert in drei Formen, die sich in ihrer Zusammensetzung und in ihrer Affinität zu dem Liganden unterscheiden. Der niedrigaffine IL-2R ($K_d = 10^{-8}$ M), der auch als α -Kette, leichte (L) Kette, p55 Molekül, sowie beim Menschen auch als CD25 oder als Tac-Antigen bezeichnet wird, ist ein Glycoprotein von 55 kDa Molekulargewicht. Die Gene für die α -Kette des Maus-, Rind- und menschlichen IL-2R sind kloniert und die Aminosäuresequenzen ihrer Proteinprodukte sind bestimmt (Miller et al., J.Immunol. 134 (1985) 4212-4217; Nikaido et al., Nature 311 (1984) 631; Weinberg et al., Immunology 63 (1988), 603).

Der mittelaaffine IL-2R ($K_d = 10^{-9}$ M), der auch als β -Kette, schwere (H) Kette oder p75 Molekül bezeichnet wird, ist ein Glykoprotein von 70 bis 75 kDa Molekulargewicht bei Maus und Mensch (Tsuda et al., Proc.Natl.Acad.Sci. USA 83 (1986), 9694; Sharon et al., J.Exp.Med. 167 (1988), 1265).

Der hochaffine IL-2R ($K_d = 10^{-11}$ M) ist ein Heterodimer, das aus nicht kovalent gebundenen α - und β -Ketten besteht (Wang und Smith, J.Exp.Med. 166 (1987), 1156; Waldman, J.Nat.Cancer Institute 81 (1989) 915).

Monoklonale Antikörper sowohl gegen die α - als auch gegen die β -Kette des humanen IL-2-Rezeptors wurden isoliert und ihre immunsuppressive Wirkung sowohl in vitro als auch in vivo gezeigt (Sakagami et al., Transplantation Proceedings Vol. XIX (1) (1987), 586-590; Kupiec-Weglinski et al., Proc.Natl. Acad.Sci. USA 83 (1986), 2624-2627; Mouzaki et al., Eur.J. Immunol. 17 (1987), 335-341; Olive et al., Eur.J.Immunol. 16 (1986), 611-616; Friend et al., Transplantation Proceedings, Vol. XIX (1987), 4317-4418; Soullillou et al., Lancet, 13. Juni (1987), 1339-1342; Kupiec-Weglinski et al., Eur.J.Immunol. 17 (1987), 313-319).

Monoklonale Antikörper gegen den IL-2R besitzen ein großes Potential für die Immunsuppressiv-Therapie, insbesondere zur Behandlung der Transplantatabstoßungen, der Erwachsenen-T-Zell-Leukämie und von Autoimmunkrankheiten wie z.B. rheumatoider Arthritis.

Es hat sich jedoch gezeigt, daß die in vivo-Verabreichung von monoklonalen Antikörpern tierischen Ursprungs beim Menschen begrenzt ist, da sie als fremd erkannt werden und dies eine Immunreaktion gegen die verabreichten Antikörper hervorruft. Diese Immunreaktion kann durch Verwendung von sogenannten chimären oder humanisierten Antikörpern verringert werden. Chimäre Antikörper sind Antikörper, bei denen die konstante Domäne tierischen Ursprungs (z.B. der Maus) durch eine menschliche konstante Domäne ersetzt wurde. Humanisierte Antikörper sind menschliche Antikörper, von denen nur die Antigen-Bindungsstellen der variablen Region (die CDR- oder hypervariablen Regionen) tierischen Ursprungs sind (Verhoeyen und Riechmann, BioEssays 8 (1988), 74-78).

Doch selbst bei Verabreichung von chimärisierten oder humanisierten Antikörpern in hohen Dosen konnte in einigen Fällen eine unerwünschte Immunreaktion des Patienten aufgrund der Erzeugung von antidiotypischen Antikörpern beobachtet werden.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist daher die Bereitstellung von Antikörpern, die bei einer Immunsuppressionstherapie wirksam sind, und in einer wesentlich geringeren Dosierung eingesetzt werden können als bereits bekannte Antikörper.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine Antikörper-Zusammensetzung, welche die Bindung von Interleukin 2 an seinem hochaffinen Rezeptor hemmt und

- (1) monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors und
- (2) monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält.

Der kombinierte Einsatz von monoklonalen Antikörpern sowohl gegen die α - als auch gegen die β -Kette des IL-2-Rezeptors in vitro führt überraschenderweise zu synergistischen Effekten, so daß durch die erfindungsgemäße Antikörperzusammensetzung eine stärkere Inhibition der IL-2-induzierten Prolifertation humaner peripherer Blutlymphozyten bewirkt wird, als es bei Einsatz eines der beiden Antikörper allein bei der entsprechenden Konzentration beobachtet wird.

Eine erfindungsgemäße Antikörperzusammensetzung enthält günstigerweise

- (1) von 1 bis 99 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors und
- (2) von 99 bis 1 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors.

Vorzugsweise enthält die Zusammensetzung 4 bis 96 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors und 96 bis 4 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors. Bei einem Antikörper-

Verhältnis von 4:96 bzw. 96:4 wird bereits eine fünffache Reduktion in der Antikörper-Gesamtmenge gefunden als wenn man nur einen monoklonalen Antikörper gegen die α - oder die β -Kette verwendet.

Besonders bevorzugt ist die erfindungsgemäße Zusammensetzung, wenn sie etwa gleiche Mengen (1) von monoklonalen Antikörpern gegen die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors und (2) monoklonalen Antikörpern gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält. Bei einem äquimolaren Antikörper-Verhältnis wurde eine fünfzehnfache Reduktion der Gesamtkonzentration der monoklonalen Antikörper gefunden, die für eine 60 bis 70 %ige Hemmung der IL-2-Wirkung erforderlich ist.

Vorzugsweise enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung einen Antikörper gegen die α -Kette, der für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin-2-Bindung bewirkt. Ebenso ist es bevorzugt, wenn die erfindungsgemäße Zusammensetzung einen Antikörper gegen die β -Kette enthält, der für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin 2-Bindung bewirkt. Besonders bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Zusammensetzung, wenn sie jeweils einen Antikörper gegen die α - und einen Antikörper gegen die β -Kette enthält, von denen jeder für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin 2-Bindung bewirkt.

Als Antikörper gegen die α -Kette, die in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung vorhanden sind, wird vorzugsweise der Antikörper 3G10/179 (ECACC 90071905) eingesetzt. Es sind jedoch auch andere Antikörper gegen die α -Kette von Interleukin 2 geeignet, insbesondere wenn sie für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin 2-Bindung bewirken. Als Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors ist der Antikörper C68/41 (ECACC 90090704) oder der Antikörper A23A41 (DSM ACC2015) besonders geeignet, ebenso sind jedoch aus der Literatur bekannte Antikörper, wie etwa der Mik/ β_1 -

Antikörper (Tsudo et al., Proc.Natl.Acad.Sci. USA 86 (1989), 1982-1986; Takeshita et al., J.Exp.Med. 169 (1989), 1323-1332) geeignet.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung kann auch ein kovalentes Kopplungsprodukt aus einem monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette und einem monoklonalen Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2-Rezeptors enthalten.

Vorzugsweise enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung einen oder mehrere chimärisierte Antikörper mit humanen konstanten Domänen bzw. humanisierte Antikörper, bei denen auch die nicht hypervariablen Teile der variablen Domäne durch die entsprechenden menschlichen Regionen ersetzt sind. Dabei verwendet man günstigerweise chimärisierte Antikörper, deren variable Domänen durch neue, in DE 40 33 120 sowie einer weiteren korrespondierenden Anmeldung beschriebene Verfahren isoliert wurden.

Weiterhin beinhaltet die vorliegende Erfindung ein Arzneimittel, das eine erfindungsgemäße Antikörper-Zusammensetzung, sowie gegebenenfalls übliche pharmazeutische Träger-, Füll-, Hilfs- und Zusatzstoffe enthält, sowie ein Verfahren zur Herstellung eines solchen Arzneimittels, insbesondere zur Immunsuppressionstherapie von lymphoproliferativen Krankheiten, Autoimmunkrankheiten, Transplantatabstoßungen oder sonstigen Störungen im Organismus, bei denen die Proliferation von T-Zellen zumindest zeitweise unterdrückt werden muß. Weiterhin beinhaltet die Erfindung die Verwendung eines solchen Arzneimittels zur Immunsuppressionstherapie.

Schließlich beinhaltet die Erfindung auch ein Verfahren zur Bekämpfung von Störungen des Immunsystems, insbesondere zur Immunsuppression, worin man ein erfindungsgemäßes Arzneimittel verabreicht.

Die Zelllinien, welche die genannten Antikörper produzieren, wurden bei der European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC), Porton Down (GB) bzw. der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSM), Mascheroder Weg 1b, D-3300 Braunschweig hinterlegt und erhielten die Hinterlegungsnummern:

3G10/179 : ECACC 90071905 (Hinterlegungsdatum: 19.07.1990)
C68/41 : ECACC 90090704 (Hinterlegungsdatum: 07.09.1990)
A23A41 : DSM ACC2015 (Hinterlegungsdatum: 30.07.1991)

Die Sequenzen der variablen Regionen des Antikörpers A23A41 sind in den beiliegenden Sequenzprotokollen beschrieben. Geeignete konstante Regionen (murin oder human) für diesen Antikörper sind beschrieben in: Sequences of proteins of immunological interest; E. Kabat, T. Wu, M. Reid-Miller, H. Perry und K. Gottesman, US Department of Health and Human Services, 1987, p. 282-325.

Die Erfindung soll noch durch folgendes Beispiel in Verbindung mit den Sequenzprotokollen verdeutlicht werden.

SEQ ID NO. 1 zeigt die Nukleotid- und Aminosäuresequenz der variablen Region der leichten Kette des Anti-IL2R β -Antikörpers A23A41.

SEQ ID NO. 2 zeigt die Nukleotid- und Aminosäuresequenz der variablen Region der schweren Kette des Anti-IL2R β -Antikörpers A23A41.

Beispiel 1

1. Präaktivierung humaner peripherer Blutlymphozyten

Periphere Blutlymphozyten werden über einen Ficoll-Gradienten angereichert, in Zellkulturmedium gewaschen und mit 5 µg/ml Concanavalin A bei einer Zelldichte von 8×10^5 Zellen/ml für 3 Tage inkubiert (37°C, 5 % CO₂). Danach werden die Zellen mit Kulturmedium mit 5 mg/ml Methyl- α -mannopyranosid zur Entfernung des ConA gewaschen und in den Test eingesetzt.

2. Testdurchführung

Die präaktivierten, gewaschenen, humanen, peripheren Blutlymphozyten werden auf 4×10^6 Zellen/ml in Kulturmedium eingestellt und je 25 µl der Zellsuspension mit je 25 µl der monoklonalen Antikörper gegen den IL-2 Rezeptor (Konzentration siehe Tabelle 1) für eine halbe Stunde bei Raumtemperatur in einer 96-Loch Mikrotiterplatte inkubiert. Danach wird 25 µl einer IL-2 Lösung (100 U/ml) zugegeben und die Kultur für 48 Stunden inkubiert (37°C, 5 % CO₂).

Anschließend werden Vitalität und Wachstum der Lymphoblasten mit Hilfe des Vitalfarbstoffes 3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) bestimmt. Dazu wird pro Mikrokulturansatz 10 µl einer MTT-Lösung (5mg/ml in PBS) zugegeben und bei 37°C für 4 Stunden inkubiert. Die Lösung des blauen Formazans erfolgt nach Zugabe von 100 µl pro Mikrokultur von einer 10 %igen SDS-Lösung in 0,01 N HCl bei 37°C über Nacht. Danach wird die Extinktion des umgesetzten Farbstoffs am ELISA-Reader bei einer Meßwellenlänge von 550 nm gegen eine Referenzwellenlänge von 690 nm gemessen und die Inhibition der Farbstoffumsetzung gegenüber einer Kontrolle ohne monoklonalen Antikörper gegen den IL-2 Rezeptor bestimmt.

3. Ergebnis

Überraschenderweise benötigt man bei einer geeigneten Kombination der beiden Antikörper eine um den Faktor 15 geringere Antikörperkonzentration als wenn man jeweils einen der beiden Antikörper alleine einsetzt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Für eine 60 bis 70 %ige Hemmung der IL-2 induzierten Proliferation präaktivierter humaner peripherer Blutlymphozyten werden an monoklonalem Antikörper gegen den IL-2 Rezeptor in vitro benötigt:

anti- α MAK 3G10/179	anti- β MAK C68/41 oder A23A41	Gesamtkonz. MAK	Reduktion
62,5 $\mu\text{g/ml}$	0 $\mu\text{g/ml}$	62,5 $\mu\text{g/ml}$	0
12 $\mu\text{g/ml}$	0,5 $\mu\text{g/ml}$	12,5 $\mu\text{g/ml}$	5-fach
2 $\mu\text{g/ml}$	2 $\mu\text{g/ml}$	4 $\mu\text{g/ml}$	15-fach
0,5 $\mu\text{g/ml}$	12 $\mu\text{g/ml}$	12,5 $\mu\text{g/ml}$	5-fach
0 $\mu\text{g/ml}$	62,5 $\mu\text{g/ml}$	62,5 $\mu\text{g/ml}$	0

- 9 -

SEQ.ID.NO.: 1

ART DER SEQUENZ: Nukleinsäure mit entsprechendem Protein

SEQUENZLÄNGE: 322 bp

MERKMALE: aa 1-96 V-Region

aa' 97-107 J-Region

bp 322 erstes Basenpaar der C-Region

GAC Asp 1	GTC Val	TTG Leu	CTG Leu	ACT Thr 5	CAG Gln	TCT Ser	CCA Pro	GCC Ala	ATC Ile 10	CTG Leu	TCC Ser	GTG Val	AGT Ser	CCA Pro 15	GGA Gly	48
GAA Glu	AGA Arg	GTC Val	AGT Ser 20	TTC Phe	TCC Ser	TGT Cys	AGG Arg	GCC Ala 25	AGT Ser	CAG Gln	AGC Ser	ATT Ile	GGC Gly 30	ACA Thr	AGC Ser	96
ATA Ile	CAC His	TGG Trp 35	TAT Tyr	CAG Gln	CAA Gln	AGA Arg	ACA Thr 40	AAT Asn	GGT Gly	CCT Pro	CCA Pro	AGG Arg 45	CTT Leu	CTC Leu	ATA Ile	144
AAG Lys 50	TAT Tyr	GCG Ala	TCT Ser	GAG Glu	TCA Ser	ATC Ile 55	TCT Ser	GGG Gly	ATC Ile	CCT Pro	TCC Ser 60	AGG Arg	TTT Phe	AGT Ser	GGC Gly	192
AGT Ser 65	GGA Gly	TCA Ser	GGG Gly	ACA Thr	GAT Asp 70	TTT Phe	ACT Thr	CTT Leu	AGC Ser	ATC Ile 75	AGC Ser	AGT Ser	GTG Val	GAG Glu	TCT Ser 80	240
GAA Glu	GAT Asp	ATT Ile	GCA Ala	GAT Asp 85	TAT Tyr	TAC Tyr	TGT Cys	CAA Gln	CAA Gln 90	ACT Thr	AAT Asn	AGC Ser	TGG Trp	CCA Pro 95	ACC Thr	288
ACG Thr	TTC Phe	GGA Gly	GGG Gly 100	GGG Gly	ACC Thr	AAG Lys	CTG Leu	GAA Glu 105	ATT Ile	AAA Lys	C	322				

-10-

SEO.ID.NO.: 2

ART DER SEQUENZ: Nukleinsäure mit entsprechendem Protein

SEQUENZLÄNGE: 355 bp

MERKMALE: aa 1-98 V-Region

aa 99-104 D-Region

aa 105-118 J-Region

bp 355 erstes Basenpaar der C-Region

GAG	GTC	CAG	CTG	CAA	CAG	TTT	GGA	GCT	GAA	TTG	GTG	AAG	CCT	GGG	ACT	48
Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Phe	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Thr	
1				5					10					15		

TCG	GTG	AAG	ATA	TCC	TGC	AAG	GCT	TCT	GGC	TAC	ATT	TTC	ACT	GAC	TAC	96
Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Phe	Thr	Asp	Tyr	
			20					25					30			

AAC ATG GAC TGG GTG AAG CAG AGC CAT GGA AAG AGC CTT GAG TGG ATT 144
Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

GGA GAT ATT GAT CCT AAC TTT GAT AGT TCC AGT TAC AAC CAG AAG TTC 192
Gly Asp Ile Asp Pro Asn Phe Asp Ser Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

AAG GGA AAG GCC ACA TTG ACT GTA GAC AAG TCC TCC AAC ACA GCC TAC 240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ATG	GAG	CTC	CGC	AGC	CTG	ACA	TCT	GAG	GAC	ACT	GCA	GTC	TAT	TAC	TGT	288
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		

GCA	AGA	GGG	GGA	TTC	CCC	TAT	GGT	ATG	GAC	TAC	TGG	GGT	CAA	GGA	ACC	336
Ala	Arg	Gly	Gly	Phe	Pro	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
			100					105					110			

TCA GTC ACC GTC TCC TCA G 355
Ser Val Thr Val Ser Ser
115

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Antikörper-Zusammensetzung,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie die Bindung von Interleukin 2 an seinen hochaf-
finen Rezeptor hemmt und
 - (1) monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Inter-
leukin 2 Rezeptors und
 - (2) monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Inter-
leukin 2 Rezeptors enthält.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie
 - (1) von 1 bis 99 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge
monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Inter-
leukin 2 Rezeptors und
 - (2) von 99 bis 1 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge
monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Inter-
leukin 2 Rezeptors enthält.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie
 - (1) von 4 bis 96 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge
monoklonale Antikörper gegen die α -Kette des Inter-
leukin 2 Rezeptors und
 - (2) von 96 bis 4 % auf Basis der Antikörper-Gesamtmenge
monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des Inter-
leukin 2 Rezeptors enthält.
4. Zusammensetzung nach Anspruch 3,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß etwa gleiche Mengen (1) von monoklonalen Antikörpern
gegen die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors und (2)

monoklonalen Antikörpern gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält.

5. Zusammensetzung nach Anspruch 4,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie einen Antikörper gegen die α -Kette enthält, der
für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin 2
Bindung bewirkt.
6. Zusammensetzung nach Anspruch 4,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie einen Antikörper gegen die β -Kette enthält, der
für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin 2
Bindung bewirkt.
7. Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 6,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie jeweils einen Antikörper gegen die α - und einen
Antikörper gegen die β -Kette enthält, von denen jeder
für sich alleine bereits eine Hemmung der Interleukin 2
Bindung bewirkt.
8. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie den Antikörper 3G10/179 (ECACC 90071905) gegen
die α -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält.
9. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie den Antikörper C68/41 (ECACC 90090704) gegen die
 β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält.
10. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,
daß sie den Antikörper A23A41 (DSM ACC2015) gegen die β -
Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält.

11. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , daß sie ein kovalentes Kopplungsprodukt aus einem monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette und einem monoklonalen Antikörper gegen die β -Kette des Interleukin 2 Rezeptors enthält.
12. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , daß sie chimärisierte Antikörper mit humanen konstanten Domänen enthält.
13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , daß sie humanisierte Antikörper enthält.
14. Arzneimittel, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , daß es eine Antikörper-Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, sowie gegebenenfalls übliche pharmazeutische Träger-, Füll-, Hilfs- und Zusatzstoffe enthält.
15. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Immunsuppressionstherapie , d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , daß man eine Antikörper-Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, gegebenenfalls mit üblichen pharmazeutischen Träger-, Füll-, Hilfs- und Zusatzstoffen formuliert.
16. Verwendung eines Arzneimittels nach Anspruch 14 zur Immunsuppressionstherapie.

17. Verfahren zur Immunsuppressionstherapie,
dadurch gekennzeichnet,
daß man ein Arzneimittel nach Anspruch 14 verabreicht.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 91/01737

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all, ⁶ According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl. ⁵ A 61 K 39/395		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int. Cl. ⁵ C 07 K		
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ⁹	Citation of Document, ¹¹ with Indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
X	WO, A, 8909622 (PROTEIN DESIGN LABS INC.) 19 October 1989, see page 26, line 9 - page 34, line 13 ---	1,12-17
Y	EP, A, 0241811 (BAYER AG) 21 October 1987, see the whole document ---	1
Y	WO, A, 8809671 (IMMUNOTECH et al.) 15 December 1988, see the whole document ---	1
Y,P	FR, A, 2652747 (INSTITUT MERIEUX) 12 April 1991, see the whole document ---	1
Y,P	EP, A 0421876 (PASTEUR MERIEUX SERUMS ET VACCINS) 10 April 1991, see the whole document -----	1
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>¹⁰ Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of this International Search Report
26 November 1991 (26.11.91)		5 February 1992 (05.02.92)
International Searching Authority		Signature of Authorized Officer
EUROPEAN PATENT OFFICE		

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

V. ☒ OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE ¹

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. ☐ Claim numbers because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claim numbers because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Although claims 16 and 17 relate to methods for treatment of the human or animal body, the search was carried out and based on the indicated effects of the compound/composition.

3. ☐ Claim numbers because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

VI. ☐ OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING ²

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims of the international application.

2. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which fees were paid, specifically claims:

3. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:

4. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

EP 9101737
SA 51041

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 16/01/92
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A- 8909622	19-10-89	AU-A- 3544589	03-11-89
		EP-A- 0362371	11-04-90
		JP-T- 2503867	15-11-90
EP-A- 0241811	21-10-87	GB-A- 2188941	14-10-87
		JP-A- 63012297	19-01-88
WO-A- 8809671	15-12-88	FR-A- 2616330	16-12-88
		EP-A- 0296082	21-12-88
		JP-T- 1503540	30-11-89
FR-A- 2652747	12-04-91	None	
EP-A- 0421876	10-04-91	FR-A- 2652746	12-04-91
		JP-A- 3209334	12-09-91

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 91/01737

I. KLASSEFIZKATION DES ANMELDUNGS-GE-GENSTANDS (bei mehreren Klassefizierungssymbolen sind alle anzugeben)⁶

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC
Int.C1.5 A 61 K 39/395

II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprufstoff⁷

Klassifikationssystem

Klassifikationssymbole

Int.C1.5

C 07 K

Recherchierte nicht zum Mindestprufstoff gehorende Veroffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen⁸

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN⁹

Art. ¹⁰	Kennzeichnung der Veroffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maBgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	WO,A,8909622 (PROTEIN DESIGN LABS INC.) 19. Oktober 1989, siehe Seite 26, Zeile 9 - Seite 34, Zeile 13 ---	1,12-17
Y	EP,A,0241811 (BAYER AG) 21. Oktober 1987, siehe das ganze Dokument ---	1
Y	WO,A,8809671 (IMMUNOTECH et al.) 15. Dezember 1988, siehe das ganze Dokument ---	1
Y,P	FR,A,2652747 (INSTITUT MERIEUX) 12. April 1991, siehe das ganze Dokument ---	1
Y,P	EP,A,0421876 (PASTEUR MERIEUX SERUMS ET VACCINS) 10. April 1991, siehe das ganze Dokument -----	1

⁹ Besondere Kategorien von angegebenen Veroffentlichungen¹⁰:

- "A" Veroffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" altes Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veroffentlicht worden ist
- "L" Veroffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritatsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veroffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veroffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgefuhrt)
- "O" Veroffentlichung, die sich auf eine mundliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere MaBnahmen bezieht
- "P" Veroffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritatsdatum veroffentlicht worden ist

- "T" Spatere Veroffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritatsdatum veroffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verstandnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veroffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tatigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veroffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tatigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veroffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veroffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung fur einen Fachmann nabeliegend ist
- "&" Veroffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26-11-1991

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

05.02.92

Internationale Recherchenbehörde

EUROPÄISCHES PATENTAMT

Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten

Natane Weinberg

WEITERE ANGABEN ZU BLATT 2

V. ☒ BEMERKUNGEN ZU DEN ANSPRUCHEN, DIE SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN HABEN¹

Gemäß Artikel 17 Absatz 2 Buchstabe a sind bestimmte Ansprüche aus folgenden Gründen nicht Gegenstand der internationalen Recherche gewesen:

1. ☐ Ansprüche Nr., weil sie sich auf Gegenstände beziehen, die zu recherchieren die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr., weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
Obwohl die Ansprüche 16 und 17 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/ tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
3. ☐ Ansprüche Nr., weil sie abhängige Ansprüche und nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) PCT abgefaßt sind.

VI. BEMERKUNGEN BEI MANGELNDER EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG²

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren gezahlt worden sind, nämlich
3. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; sie ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
4. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche eine Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hatte, hat die Internationale Recherchenbehörde eine solche Gebühr nicht verlangt.

Bemerkung hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

EP 9101737
SA 51041

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 16/01/92
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO-A- 8909622	19-10-89	AU-A- 3544589	03-11-89
		EP-A- 0362371	11-04-90
		JP-T- 2503867	15-11-90
EP-A- 0241811	21-10-87	GB-A- 2188941	14-10-87
		JP-A- 63012297	19-01-88
WO-A- 8809671	15-12-88	FR-A- 2616330	16-12-88
		EP-A- 0296082	21-12-88
		JP-T- 1503540	30-11-89
FR-A- 2652747	12-04-91	Keine	
EP-A- 0421876	10-04-91	FR-A- 2652746	12-04-91
		JP-A- 3209334	12-09-91

EPO FORM 10071

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts. Nr.12/82